

The Study of Inhibition of Lipase Activity in *Pseudomonas aeruginosa*

Majid Talebi¹, Dariush Minaei Tehrani^{2*}, Mohammad Fazilati³, Arash Minaei Tehrani⁴

1. PhD Student, Department of Biology, Payam-e Noor University (PNU), Tehran, Iran
2. Associate Professor, Faculty of Life Sciences & Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
3. Professor, Department of Biology, Payam-e Noor University (PNU), Tehran, Iran
4. Assistant Professor, Department of Nanobiotechnology, Avicenna Research Institute, ACECR, Tehran, Iran

Received: 19 Aug 2017, Accepted: 4 Nov 2017

Abstract

Background: Lipases are one of the groups of enzymes which are important in medicine and industry. In gastrointestinal tract of human, lipase catalysis break down of triglyceride. Bacteria have also lipases which break down triglyceride in their culture medium and can use its fatty acids as carbon source. Dicyclomine is an antispasmodic drug that relieves smooth muscle spasm of the gastrointestinal tract. Few drugs have been determined to inhibit lipase activity, in this research; dicyclomine was introduced as an inhibitor of lipase, for the first time.

Materials and Methods: Lipase was extracted from *Pseudomonas aeruginosa* and the effect of dicyclomine was tested on its activity. The bacterium was cultured in medium with olive oil as carbon source and the supernatant was used for enzyme assay. For monitoring the enzyme activity, Para nitrophenyl palmitate (pNPP) was used as a substrate and the induced product was measured by visible spectrophotometer. Lineweaver-Burk plot was utilized for revealing the type of binding.

Results: This research has shown that dicyclomine can inhibit lipase. Inhibition plot determined that the drug can inhibit the enzyme by competitive manner. Calculation of K_i and IC_{50} values showed that the drug can bind to the enzyme with high affinity. The study of enzyme activity in different pH and temperature revealed that optimum activity of enzyme, in the presence or absence of the drug, was observed in pH 8 and 60°C.

Conclusion: For the first time, dicyclomine was introduced as an inhibitor of lipase and the kinetics factors of the drug were investigated.

Keywords: Bacterium, Dicyclomine, Drug, Inhibition, Lipase

*Corresponding Author:

Address: Faculty of Life Sciences & Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

Email: d_mtehrani@sbu.ac.ir

بررسی مهار آنزیم لیپاز در باکتری سودوموناس آئروجینوزا

مجید طالبی^۱، داریوش مینایی تهرانی^{۲*}، محمد فضیلتی^۳، آرش مینایی تهرانی^۴

۱. دانشجوی دکترا، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲. دانشیار، دانشکده علوم و فن آوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

۳. استاد، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۴. استادیار، گروه نانوبیوتکنولوژی، مرکز تحقیقات ابن سینا، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۵/۲۸، تاریخ پذیرش: ۹۶/۸/۱۳

چکیده

زمینه و هدف: لیپازها دسته مهمی از آنزیم‌ها هستند که در پزشکی و صنعت اهمیت زیادی دارند. این آنزیم در دستگاه گوارش انسان سبب شکسته شدن تری گلیسیرید می شود. باکتری‌ها نیز دارای لیپاز بوده که سبب شکسته شدن تری گلیسیرید در محیط رشد آن‌ها شده و از اسید چرب آن به عنوان منبع کربن استفاده می کنند. دی سیکلومین یک داروی ضد اسپاسم عضلانی است که به عنوان مسکن برای دردهای دستگاه گوارش استفاده می شود. با توجه به این که تا کنون داروهای اندکی برای مهار لیپاز شناسایی شده اند، در این مطالعه برای اولین بار داروی دی سیکلومین به عنوان مهار کننده آنزیم لیپاز معرفی شد.

مواد و روش‌ها: لیپاز از باکتری سودوموناس آئروجینوزا استخراج شد و تأثیر داروی دی سیکلومین بروی آن آزمایش شد. باکتری در محیط دارای روغن زیتون به عنوان تنها منبع کربن کشت شد و از سوپ کشت به عنوان منبع آنزیم استفاده شد. برای اندازه گیری فعالیت آنزیم از سوبسترای پارانیتروفنیل پالمیتات استفاده شد و مقدار محصول حاصل از تجزیه آن توسط اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. از منحنی لینیور-برک برای بررسی نوع اتصال استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج این تحقیق نشان داد که دی سیکلومین می تواند به خوبی آنزیم لیپاز را مهار نماید. رسم منحنی مهار آنزیم مشخص کرد که آنزیم به صورت رقابتی توسط دارو مهار می شود. محاسبه مقدار K_i و IC_{50} نشان داد که دارو با تمایل بالا به آنزیم متصل می شود. مطالعه فعالیت آنزیم در pH ها و دماهای مختلف نشان داد که بیشترین فعالیت آنزیم چه در حضور و چه در غیاب دارو در مقدار pH برابر با ۸ و دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

نتیجه گیری: داروی دی سیکلومین برای نخستین بار به عنوان مهار کننده آنزیم لیپاز معرفی شد و فاکتورهای کینیتیکی دارو مورد مطالعه قرار گرفت.

واژگان کلیدی: لیپاز، مهارکنندگی، دارو، باکتری، دی سیکلومین

*نویسنده مسئول: ایران، تهران، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم و فن آوری زیستی

Email: d_mtehrani@sbu.ac.ir

مقدمه

سودوموناس آئروجینوزا یک باکتری گرم منفی است که جهت زیست پالایی ترکیبات آلاینده آلی موجود در خاک و آب به طور گسترده استفاده می‌شود (۱، ۲). این باکتری در صنعت بسیار مفید می‌باشد به عنوان مثال می‌تواند بعضی از مواد سمی موجود در خاک و آب را به صورت هوازی تجزیه نماید. هم‌چنین این باکتری به عنوان عامل مهم عفونت‌های بیمارستانی به ویژه بیمارانی دارای نقص سیستم ایمنی هستند، شناخته شده است. یکی از مهم‌ترین دلایلی که سودوموناس را به عنوان یک پاتوژن فرصت طلب در بیماران معرفی می‌کند، توانایی این باکتری در استفاده از ترکیبات مختلف به عنوان منبع کربن است (۳). بدین منظور این باکتری انواع مختلفی از آنزیم‌ها را جهت تخریب منابع کربن ساده و پیچیده جهت کسب انرژی به کار می‌برد (۳). استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها ممکن است تنها روش برای برخورد با سودوموناس در بیماران باشد. اما این باکتری در برابر بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های رایج مقاوم شده است (۴، ۵). گرچه بسیاری از سوبه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، توبرامایسین، کولیستین و فلوروکینولین حساس هستند، اما اشکال مقاوم نیز گسترش یافته‌اند. ترکیب جنتامایسین جهت درمان آلودگی‌های شدید سودوموناس به طور مکرر استفاده می‌شود. چندین نوع واکسن در حال آزمایش هستند اما هیچ‌کدام از آن‌ها برای استفاده عموم به طور رایج در دسترس نیستند (۶). عمده آنزیم‌های خارج سلولی که توسط سودوموناس آئروجینوزا تولید می‌شوند عبارت‌اند از: پروتئاز (۷)، الاستاز A و B (۸)، فسفولیپاز C (۹) و لپاز (۱۰، ۱۱). این آنزیم‌ها سبب مرگ سلولی، آسیب بافتی شدید و نکروز در انسان می‌شوند (۱۲). لپاز آنزیمی است که هیدرولیز لیپیدها را کاتالیز می‌کند. بعضی از لپازها طی عفونت توسط ارگانسیم‌های پاتوژن ترشح می‌شوند. از طرف دیگر، اگر جنبه تخریبی این آنزیم‌ها را در حالت پاتوژن باکتری در نظر بگیریم، آنزیم‌هایی که این باکتری ترشح می‌کند، از لحاظ صنعتی کاربرد مهمی دارد. به

عنوان مثال، لپاز میکروبی کاربردهای صنعتی داشته و در شونده‌ها، مواد آرایشی، داروها و چرم سازی استفاده می‌شود (۱۳). بسیاری از میکروارگانسیم‌ها از قبیل باکتری‌ها، مخمر و قارچ‌ها ترشح‌کننده لپاز شناخته شده‌اند. به طوری که میکروارگانسیم‌های تولیدکننده لپاز در زیستگاه‌های مختلف از قبیل ضایعات صنعتی، کارخانجات پردازش روغن گیاهی، لبنیاتی‌ها، خاک آلوده شده با نفت و غیره این آنزیم را ترشح می‌کنند (۱۴). به خاطر اهمیت این آنزیم در صنعت و پزشکی، هر عاملی که بتواند فعالیت لپاز را مهار کند ممکن است در صنعت و پزشکی مهم باشد. برای مثال، مهار لپاز ممکن است برای افرادی که از چاقی رنج می‌برند مفید باشد. اریلاستات یک مهارکننده برای لپاز پانکراس است که به منظور کاهش جذب لیپید در اشخاص چاق مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۵، ۱۶).

موادی که سبب مهار آنزیم لپاز می‌شوند بسیار کم معرفی شده‌اند. سیوترامین و اورلیستات تنها داروهای ضد چاقی تأیید شده جهت سرکوب اشتها می‌باشند (۱۷) با این حال مصرف اورلیستات به دلیل عوارض جانبی نامطبوع مانند بی‌اختیاری مدفوع، نفخ شکم و استئاتوره استفاده از آن محدود شده است. هم‌چنین داروی سیوترامین به دلیل عوارض قلبی عروقی و سکت‌های مغزی در بیشتر کشورها ممنوع اعلام شده است. با وجود دلایل ذکر شده استفاده از مهارکننده‌ی آنزیمی با عوارض جانبی کمتر ارزشمند است (۱۸). در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۰ انجام گرفت، استفاده از ترکیبات طبیعی مانند عصاره دانه‌ی انگور و عصاره چای سبز (۱۹) نیز به عنوان مهارکننده لپاز بررسی شده است. هم‌چنین در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۸ در کره انجام گرفت، از ریشه‌ی گیاه *Actinidia arguta* استفاده شد. این گیاه در شمال چین، کره، سبیری و ژاپن یافت می‌شود و در طب سنتی چینی جهت درمان استفاده می‌گردد. استفاده از ریشه‌ی این گیاه جهت ارزیابی سنجش فعالیت مهار لپاز انجام گرفت (۲۰). در سال ۲۰۰۸ در امریکا از گیاه گل قاصدک با

دارو از شرکت شیمی دارو تهیه شد. از باکتری سودوموناس ائروجینوزا با کد ATCC 27853 استفاده شد.

۲. محیط کشت باکتری

آنزیم لیپاز از باکتری سودوموناس ائروجینوزا به دست آمد. محیط کشت این باکتری محیط پایه نمکی با ترکیب ۲/۵ گرم KH_2PO_4 ، ۲/۵ گرم Na_2HPO_4 ، ۱ گرم NH_4NO_3 ، ۰.۰۲ گرم MgSO_4 و ۰/۰۱ گرم CaCO_3 در ۱ لیتر آب بود که به pH ۷ رسانده شد. روغن زیتون به عنوان منبع کربن با غلظت نهایی ۱ درصد استفاده شد. محیط کشت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت هوادهی شد. سپس سلول ها به وسیله سانتریفیوژ رسوب داده شدند و سوپرناتانت برای سنجش آنزیم مورد استفاده قرار گرفت.

۳. سنجش آنزیم

بافر تریس با pH ۸ و ۰/۱ مولار تهیه شد و با اضافه کردن غلظت های مختلف (۰/۰۶ تا ۰/۵ میلی مولار) پارانیتروفنیل پالمیتات به عنوان سوسترا به بافر تریس محلول سنجش آنزیم ساخته شد. واکنش با اضافه کردن ۲۰ ماکرولیتر سوپرناتانت (دارای آنزیم) به محلول سنجش آنزیم در تیوب آغاز شد. فعالیت کاتالیزی لیپاز به طور پیوسته با جذب افزایشی در طول موج ۴۱۰ نانومتر خوانده شد. سنجش آنزیم در حضور و غیاب دارو با غلظت ۰/۳ تا ۱/۵ میلی مولار انجام شد. آنزیم در کنار پارانیتروفنیل پالمیتات به مدت ۱۰ دقیقه در حضور و غیاب دی سیکلومین انکوبه شد و تغییرات جذب ثبت گردید. این زمان برای رسیدن آنزیم به حالت پلاتو (plateau) کافی بود. برای به دست آوردن فعالیت آنزیم لیپاز در حضور سوسترای پارانیتروفنیل پالمیتات، ضریب خاموشی محصول یا همان پارانیتروفنیل $\text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \times 10^3$ ۱۸۸ در نظر گرفته شد. نمودار لینیویربرک برای به دست آوردن K_m و V_{max} آنزیم به کار برده شد. تمام سنجش هادر دمای آزمایشگاه (۲۵ تا ۲۸ درجه سانتی گراد) با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر

نام علمی *Taraxacum officinale* استفاده گردید. این گیاه به عنوان یک داروی آنتی اکسیدان ، ضد التهاب و ضد تومور استفاده می شود. جهت انجام این آزمایش از خوک جهت فعالیت لیپاز پانکراس استفاده شد. این فعالیت در زمان های صفر، ۹۰، ۱۸۰ و ۲۴۰ دقیقه دوره ی درمان انجام گرفت و در هر وعده مقدار ۲۵۰ میکرو گرم از عصاره ی این گیاه به خوک داده شد. در نهایت با محاسبه IC_{50} ، این گیاه به عنوان یک مهار کننده ی آنزیمی و عامل ضد چاقی شناخته شد (۲۱). بیشتر داروها جهت واکنش با گیرنده های خاص یا آنزیم ها طراحی شده اند، اما در برخی موارد ممکن است داروهایی به آنزیم و رسپتوری به غیر از آن که برای آن طراحی شده متصل شوند و باعث مهار شدن و یا فعال شدن آنزیم دیگری در بدن شوند که این پدیده می تواند به عنوان عوارض جانبی دارو مطرح شود. به عنوان مثال، مطالعات گذشته نشان داده است که داروی سایمتیدین که مهار کننده گیرنده هیستامین H_2 می باشد و برای کاهش ترشح اسید معده در افرادی که از درد معده رنج می برند تجویز می شود می تواند به شدت آلکالین فسفاتاز و کاتالاز را نیز مهار کند (۲۲، ۲۳). همچنین نشان داده شده است که کدئین، اسکوپولامین و رانیتیدین فعالیت سوکراز را مهار می کنند (۲۴، ۲۵).

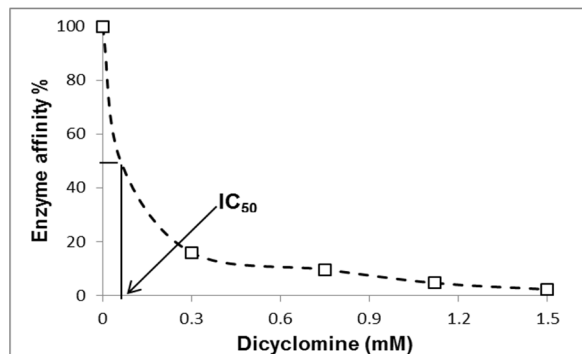
در این مطالعه نشان داده شد که داروی دی سیکلومین که به عنوان مسکن برای دردهای اسپاسم عضلات صاف مصرف می شود، یک مهار کننده قوی لیپاز است. پس از اطمینان از مهارکنندگی این دارو، فاکتورهای کینتیکی اتصال این دارو به لیپاز نیز مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

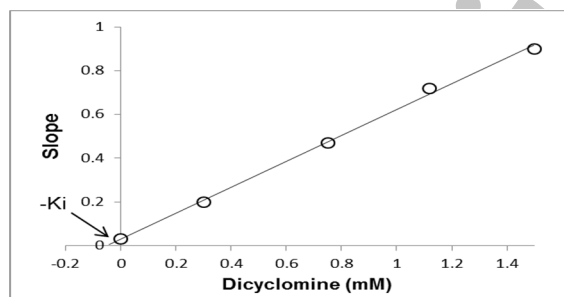
۱. مواد

مواد شیمیایی ای که برای سنجش آنزیم، محیط کشت و ساخت بافر استفاده شد از شرکت Merck تهیه شد.

افزایش غلظت دارو کاهش می‌یابد و IC_{50} دارو در حدود $60 \mu M$ محاسبه شد (مقدار دارویی که قادر است ۵۰ درصد از فعالیت آنزیم را کاهش دهد). (شکل ۲). همچنین با استفاده از منحنی ثانویه که از منحنی شکل ۱ مشتق می‌شود، مقدار K_i دارو محاسبه شد. پایین بودن مقدار ($30 \mu M$) K_i نشان داد که دارو با تمایل زیاد به آنزیم متصل می‌شود (شکل ۳).



شکل ۲. منحنی تغییرات تمایل آنزیم لیپاز برای سوبسترا که در مجاورت غلظت‌های مختلف دارو به دست آمده است. برای رسم این منحنی از تغییرات فاکتور K_m آنزیم کمک گرفته شده است. مقدار IC_{50} دارو مشخص شده است.



شکل ۳. منحنی ثانویه که از منحنی اولیه (شکل ۱) مشتق می‌شود. برای محاسبه K_i از شیب خطوط در منحنی اولیه استفاده شده است.

تأثیر pH و دما بر فعالیت آنزیم

فعالیت آنزیم در pH های مختلف (۲ تا ۱۳) نیز بررسی شد. شکل ۴ تأثیر pH های مختلف را بر فعالیت لیپاز در حضور و غیاب دارو را نشان می‌دهد. حداکثر فعالیت آنزیم چه در حضور و چه در غیاب دارو در $pH 8$ مشاهده شد. افزایش pH باعث کاهش فعالیت آنزیم شد (شکل ۴).

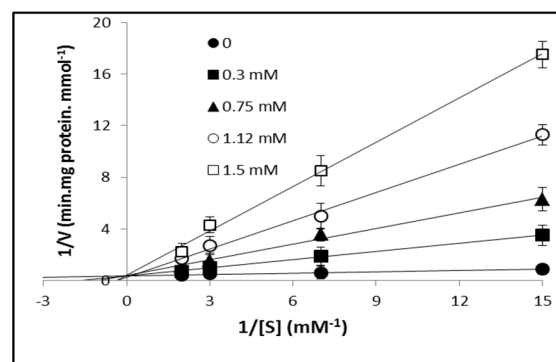
Perkin-Elmer visible انجام شد. برای تعیین غلظت پروتئین از روش بیوره استفاده شد. آزمایشات به صورت سه تکرار مجزا انجام شد (۲۶).

تأثیر دما و pH

فعالیت آنزیم در حضور و غیاب دارو در دماها و pH های مختلف طبق روش بالا اندازه‌گیری شد. برای این منظور فعالیت آنزیم در pH های بین ۲ تا ۱۱ اندازه‌گیری شد. همچنین فعالیت آنزیم در دماهای بین صفر تا ۹۰ درجه اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها

برای بررسی نوع مهارکنندگی دارو بر آنزیم لیپاز، سرعت عملکرد آنزیم در حضور غلظت‌های مختلف دارو اندازه‌گیری شد. با رسم منحنی عکس سرعت بر علیه عکس غلظت سوبسترا، نوع مهارکنندگی دارو مشخص شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت دارو مقدار K_m آنزیم افزایش یافته، در حالی که V_{max} آن ثابت باقی می‌ماند و در واقع آنزیم به صورت رقابتی مهار شده است (شکل ۱).



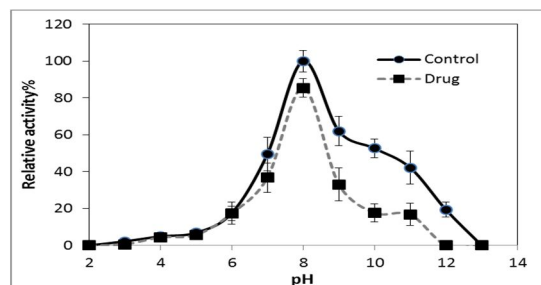
شکل ۱. منحنی عکس سرعت بر علیه عکس غلظت. مهار آنزیم لیپاز از نوع رقابتی بوده است. دارو با غلظت ۰.۳ تا ۱.۵ میلی مولار استفاده شد. اعداد به دست آمده حاصل سه تکرار مستقل بوده است.

محاسبه تغییرات K_m در حضور غلظت‌های مختلف سوبسترا نشان داد که تمایل اتصال آنزیم به سوبسترا با

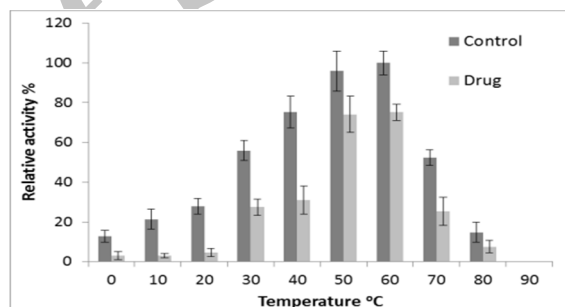
جلوگیری از جذب لیپید در افراد چاق مفید هستند. تعداد کمی از داروها به عنوان مهارکننده لیپاز مشخص شده اند. اخیراً اریلاستات به عنوان مهارکننده لیپاز معرفی شده و در افراد چاق به منظور جلوگیری از جذب لیپید استفاده می‌شود. در مطالعه حاضر برای اولین بار داروی رایج دیگری به عنوان مهار کننده لیپاز معرفی شد. دی سیکلومین یک داروی آنتی اسپاسم و آنتی کولینرژیک می باشد که برای تسکین دردهای روده‌ای و درد شکمی (کولیک) تجویز می شود. نتایج این تحقیق نشان داد که دی سیکلومین علاوه بر عملکرد اصلی خود به صورت رقابتی قادر به مهار آنزیم لیپاز نیز می باشد و می تواند از تمایل لیپاز برای اتصال به سوبسترا کم کند. محاسبه K_i و IC_{50} دارو نشان داد که دارو با تمایل بسیار بالا به آنزیم وصل می شود. مهار لیپاز با تمایل بالا در علم پزشکی دارای اهمیت است. آنزیم‌ها، نقش مهمی در بیماری‌زایی باکتری به عهده دارند، زیرا قادر به ایجاد آسیب در بافت میزبان می‌باشند که برای ایجاد عفونت مهم است (۲۷). حذف ژن لیپاز C در سودوموناس آئروژینوزا تشکیل بیوفیلم را کاهش داد (۲۸). فیلتراسیون محیط کشت اپیدرم استافیلوکوکوس باعث مهار آنزیم لیپاز و هم‌چنین مهار تشکیل بیوفیلم در کاندیدا آلیکنز می‌شود (۲۹).

مطالعات گذشته نشان داده است که برخی از داروها می توانند بر تمایل آنزیم ها نسبت به سوبسترا اثر بگذارند. برای مثال، سایمتیدین تمایل کاتالاز را نسبت به سوبسترا (پراکسید هیدروژن) کاهش می دهد و آنزیم را به صورت رقابتی مهار می کند (۳۰). ترامادول تمایل آنزیم الکالین فسفاتاز کبد را افزایش می دهد و این دارو به روش نارقابتی آنزیم را مهار می کند (۳۱). با این حال متاکاربامول آنزیم سوکراز را با روش غیررقابتی مهار می کند و تمایل سوکراز را به سوبسترا تغییر نمی دهد (۳۲). بررسی اثر pH بر تمایل لیپاز در حضور و غیاب دی سیکلومین نشان داد که منحنی اتصال در pH های مختلف در حضور و غیاب دارو از یک الگو پیروی می کند که اظهار می‌گردد تغییرات pH

آنزیم در چندین دما نیز تعیین شد. دمای اپتیمم برای فعالیت آنزیم دمای ۶۰ درجه سانتیگراد بود و الگوی نمودارهای دما در هر دو صورت (در حضور و غیاب دارو) نیز یکسان بود (شکل ۵).



شکل ۴. منحنی تأثیر تغییرات pH بر فعالیت آنزیم در غیاب دارو (شاهد) و در حضور دارو. بیشترین فعالیت در مقدار ۸pH مشاهده می‌شود.



شکل ۵. منحنی تأثیر تغییرات دما بر فعالیت آنزیم لیپاز. بیشترین فعالیت در غیاب دارو (شاهد) و حضور دارو ۶۰ درجه می باشد.

بحث

مهارکنندگی آنزیم بخش مهمی از مطالعات آنزیمی را در بر می‌گیرد. داروها همواره برای اتصال به یک رسپتور و یا آنزیم خاص در بدن طراحی می‌شوند ولی برخی از داروها به آنزیم‌هایی دیگری به غیر از آنچه برای آن‌ها طراحی شده اند متصل می‌شوند که بدن را دچار مشکل می‌کند. از جمله این موارد می‌توان به رانیتیدین و اسکوپولامین که آنزیم سوکراز را مهار می‌کنند اشاره کرد و هم‌چنین سایمتیدین و ترامادول که آلکالین فسفاتاز و کاتالاز را مهار می‌کنند. مهارکننده های لیپاز ممکن است برای کاربردهای صنعتی مفید نباشند، اما برای مهار لیپاز دستگاه گوارشی به منظور

3. Stover CK, Pham XQ, Erwin AL, Mizoguchi SD, Warrenner P, Hickey MJ, et al. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PA01, an opportunistic pathogen. *Nature* 2000; 406: 959-64.
4. Hancock REW, Speert DP. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and impact on treatment. *Drug Resist Updates* 2000; 3: 247-255.
5. Lambert PA. Mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *J R Soc Med* 2002; 95: 22-26.
6. Todar K. *Todar's Online Textbook of Bacteriology. The Good, the Bad, and the Deadly.* *SCIENCE Magazine* 2004; 304:1421.
7. Frimmersdorf E, Horatzek S, Pelnikovich A, Wiehlmann L, Schomburg D. How *Pseudomonas aeruginosa* adapts to various environments: a metabolomic approach. *Environ Microbiol* 2010; 12: 1734-1747.
8. Cryz SJ, Iglewski BH. Production of alkaline protease by *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol* 1980; 12: 131-133.
9. Bever RA, Iglewski BH. Molecular characterization and nucleotide sequence of the *Pseudomonas aeruginosa* elastase structural gene. *J Bacteriol* 1988; 170: 4309-4314.
10. Ostroff RM, Vasil ML. Identification of a new phospholipase C activity by analysis of an insertional mutation in the hemolytic phospholipase C structural gene of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 1987; 169: 4597-4601.
11. Stuer W, Jaeger KE, Winkler UK. Purification of extracellular lipase from *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 1986; 168: 1070-1074.
12. Martinez A, Ostrovsky P, Nunn DN. LipC, a second lipase of *Pseudomonas aeruginosa*, is LipB and Xcp dependent and is transcriptionally regulated by pilus biogenesis components. *Mol Microbiol* 1999; 34: 317-326.
13. König B, Jaeger KE, Sage AE, Vasil ML, König W. Role of *Pseudomonas aeruginosa* lipase in inflammatory mediator release from human inflammatory effector cells (platelets,

نمی تواند از اتصال دارو به آنزیم جلوگیری کند یا به عبارت دیگر می توان فرض نمود که دارو از طریق باند یونی برای اتصال به آنزیم استفاده نکرده است. هم چنین تاثیر دما بر فعالیت لیپاز در حضور و غیاب دارو مشخص نمود که الگوی اتصال سوبسترا هر دو حالت (در حضور و غیاب دارو) نیز یکسان است و بالا رفتن دما نتوانسته که این الگو را تغییر دهد. در نتیجه مفروض است که دارو ممکن است از طریق پیوند هیدروژنی نیز برای اتصال به آنزیم استفاده نکرده باشد. بر خلاف نتایج این گزارش، برخی از مطالعات نشان داده اند که تغییرات pH بر اتصال دارو ها به آنزیم ها تاثیر دارند. به عنوان مثال، نشان داده شد که تغییر pH، اتصال ترامادول به الکالین فسفاتاز کبد را تغییر می دهد (۳۱).

نتیجه گیری

این اولین مطالعه ای است که مهار لیپاز توسط دی سیکلومین را گزارش می دهد. نتایج نشان داد که این دارو، لیپاز را به روش رقابتی مهار می کند. دارو با تمایل بالا به آنزیم متصل می شود و از پیوند یونی یا هیدروژنی برای اتصال به آنزیم استفاده نمی کند. با توجه به این که مهار کننده های لیپاز می توانند در درمان چاقی موثر باشند، بررسی تاثیر این دارو بر روی لیپاز پانکراسی احتیاج به مطالعه و تحقیقات بیشتر دارد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات سرکار خانم دکتر زهرا سبحانی دماوندی فر به دلیل کمک های ایشان جهت پیشبرد تحقیقات این مقاله تشکر فراوان می شود.

منابع

1. Mroziak A, Piotrowski-Seget Z, Labuzek S. Bacterial degradation and bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Pol J Environ Stud* 2003; 12: 15-25.
2. Timmis KN, Pieper DH. Bacteria designed for bioremediation. *Trends Biotechnol* 1999; 17: 201-204.

- granulocytes, and monocytes. *Infect Immun* 1996; 64: 3252-3258.
14. Seitz EW. Industrial application of microbial lipases: A review. *J Amer Oil Chem Soc* 1974; 51: 12-16.
 15. Sztajer H, Maliszewska I, Wiczorek J. Production of 3. exogenous lipase by bacteria, fungi and actinomycetes. *Enzyme Microb Technol* 1998; 10: 492-7.
 16. Zhi J, Melia AT, Eggers H, Joly R, Patel IH. Review of limited systemic absorption of orlistat, a lipase inhibitor, in healthy human volunteers. *J Clin Pharmacol* 1995; 35: 1103-1108.
 17. Jandacek RJ, Woods SC. Pharmaceutical approaches to the treatment of obesity. *Drug Discov. Today* 2004; 15: 874-880.
 18. Shi JE, Han MJ, Kim DH. 3-Methylethergalanganin isolated from *Alpinia officinarum* inhibits pancreatic lipase. *Biol Pharm Bull* 2003; 26: 854-857.
 19. Juhel C, Armand M, Pafumi Y, Rosier C, Vandermander J, Lairon D. Green tea extract (AR25) inhibits lipolysis of triglycerides in gastric and duodenal medium in vitro. *J Nutr Biochem* 2000; 11: 45-51.
 20. Jang DS, Lee GY, Kim J, Lee YM, Kim JM, Kim YS, et al. A New Pancreatic Lipase Inhibitor Isolated from the Roots of *Actinidia arguta*. *Arch Pharm Res* 2008; 31: 666-670.
 21. Zhang J, Kang MJ, Myung-Jin, Kim MJ, Kim M E, Ji-Hyun Song JH, et al. Pancreatic lipase inhibitory activity of *taraxacum officinale* in vitro and in vivo. *Nutr Res Pract* 2008; 2(4): 200-203.
 22. Mancini MC, Halpern A. Pharmacological treatment of obesity. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2006; 50: 377-89.
 23. Minai-Tehrani D, Khodai S, Aminnaseri S, Minoui S, Sobhani-Damavandifard Z, Alavi S, Osmani R, Ahmadi S. Inhibition of renal alkaline phosphatase by cimetidine. *Drug Metab Lett* 2011.
 24. Minai-Tehrani D, Minoui S, Sepehri M, Sharif-Khodai Z, Aavani T. Inhibitory effect of codeine on sucrase activity. *Drug Metab Lett* 2009; 3: 58-60.
 25. Minai-Tehrani D, Fooladi N, Minoui S, Sobhani-Damavandifard Z, Aavani T, Heydarzadeh S, et al. Structural changes and inhibition of sucrase after binding of scopolamine. *Eur J Pharmacol* 2010; 635: 23-26.
 26. Selvamohan T, Ramadas V, Sathya TA. Optimization of Lipase Enzyme Activity Produced By *Bacillus Amylolyquefaciens* Isolated From Rock Lobster *Panirus Homarus*. *IJMER* 2012; 2: 4231-4234.
 27. Thomas R, Hamat RA, Neela V. Extracellular enzyme profiling of *Stenotrophomonas maltophilia* clinical isolates. *Virulence* 2014; 5: (2): 326-30.
 28. Rosenau F, Isehardt S, Gdynia A, Tielker D, Schmidt E, Tielen P, et al. Lipase LipC affects motility, biofilm formation and rhamnolipid production in *Pseudomonas Aeruginosa*. *FEMS Microbiol Lett* 2010; 309(1): 25-34.
 29. Bhattacharyya S, Gupta P, Banerjee G, Jain A, Singh M. Inhibition of biofilm formation and lipase in *Candida albicans* by culture filtrate of *Staphylococcus epidermidis* in vitro. *Int J Appl Basic Med Res* 2014; 4(1): 27-30.
 30. Masoud M, Ebrahimi F, Minai-Tehrani D. Effect of cimetidine on catalase activity of *Pseudomonas aeruginosa*: A suggested mechanism of action. *J Mol Microbiol Biotechnol* 2014; 24: 196-201.
 31. Minai-Tehrani D, Eslami M, Khazaei N, Katebian E, Azizi L, Yazdi F, et al. Inhibition and structural changes of liver alkaline phosphatase by tramadol. *Drug Metab Lett*, in press.
 32. Minai-Tehrani D, Masoudnia A, Alavi S, Osmani R, Lotfi L, Asghari M, et al. Interaction of methocarbamol and yeast sucrase induces an inhibition. *Drug Metab Drug Interact* 2012; 27: 225-228.